

等^[9]提出了通过超速离心浓缩病毒后对献血标本做 NAT 联检复检或鉴别,可解决大部分无法鉴别标本的病毒鉴别问题。但其缺点是操作比较繁琐,不适用常规检测。鉴于上述情况,有必要建立一套科学的标本 NAT 筛查鉴定方案及献血者归队方案,以提高实验的准确性和降低献血者的流失。

综上所述,新一代核酸检测 Ultrip Plus 试剂确实在实际工作中发挥着它超高的检测灵敏度,为血液的安全使用提供了强大的保障。但它同时也是一把双刃剑,要求工作者有对操作的熟练掌握与严谨的实验态度,并从中不断地总结与思考,以尽可能提高结果的准确性为不变的目标。

参考文献

- [1] 郑优荣,梁浩坚.核酸检测技术在广州地区献血者血液筛查中的应用[J].中国输血杂志,2013,26(12):1211-1214.
- [2] 李玉笑,周才.献血人群隐匿性乙型肝炎病毒感染的流行病学和血清学研究[J].热带医学杂志,2012,12(7):888-890.
- [3] 李仲平,王湜.广州地区 HBsAg 阴性无偿献血血液传播 HBV 残余风险评估[J].广东医学,2014,35(3):442-445.
- [4] Lin CK, Margaritis AR, Heaton WA, et al. 2008. Evaluation of the Procleix Ultrip Plus Assay, a second generation multiplexed NAT assay for HIV-1, HCV, HBV[J]. Vox Sanguinis, 2008, 95(1):324-326.
- [5] 王长青,李浩泷,林授,等.基于转录介导扩增技术的新一代核酸检测试剂的多中心评估[J].临床输血与检验,2016,18(2):175-179.
- [6] Sramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, et al. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing[J]. N Engl J Med, 2004, 351(2):760-768.
- [7] 邓雪莲,张丽.输血相关 HBV 风险评估的研究进展[J].中国输血杂志,2012,25(6):601-605.
- [8] 汪德海,王瑞,等.血站核酸检测实验室质量监控指标应用[J].中国输血杂志,2012,25(6):524-527.
- [9] 姚凤兰,任芙蓉.超速离心浓缩对提高血液 NAT 筛查不确定标本鉴别率的临床研究[J].北京医学,2009,31(11):687-690.
- [10] 任芙蓉.实施血液病毒核酸检测策略的相关问题探讨[J].中国输血杂志,2010,23(1):1-3.

· 临床研究 ·

自贡地区女性 15 种高危型人乳头瘤病毒感染情况分析

邱顺华¹,金李芬²

(四川省自贡市第三人民医院:1. 检验科;2. 药剂科 643020)

摘要:目的 了解自贡地区 15 种高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)基因型感染的分布情况,为自贡地区 HR-HPV 分子流行病学研究提供科学依据。**方法** 对 371 例宫颈分泌物标本采用多通道实时荧光定量 PCR 技术检测 15 种 HR-HPV 基因亚型,分析不同年龄段女性 HR-HPV 感染情况。**结果** 371 例临床标本中共检出阳性 56 例,检出率 15.09%;单一 HR-HPV 基因亚型感染 41 例(11.05%),复合感染 15 例(4.04%);其中 HPV16、52、58、18 是最常见的高危型,检出率分别为 5.93%、3.23%、2.96%、2.43%。HR-HPV 感染自贡女性人群的年龄分布以 18~<50 岁年龄段为主,其中 18~<30 岁年龄段的女性人群检出率最高(19.30%),高于其余年龄段,差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 自贡地区 15 种 HR-HPV 感染有年轻化趋势,HR-HPV 基因型检测对于自贡地区 HR-HPV 感染的诊疗、预防性疫苗的使用及宫颈癌的早期干预和预防具有重要意义。

关键词:高危型人乳头瘤病毒; 基因型; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.03.057

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)03-0421-03

宫颈癌严重危害女性的健康,是全球女性的常见恶性肿瘤之一,发病率仅次于乳腺癌^[1]。据统计,宫颈癌每年的新发患者和死亡患者 85% 发生在发展中国家^[2]。中国女性每年新发的宫颈癌患者超过 13 万,并明显趋向年轻化^[2]。目前,已有研究表明高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)的持续感染是造成宫颈癌以及癌前病变的最关键发病因素,而 16、18 型是女性宫颈癌中最常见的高危基因型,70% 左右的浸润性宫颈癌与其有关^[3-6]。在发达国家人乳头瘤状病毒(HPV)疫苗已经应用于临床,但研究表明不同的地区、不同的人群感染 HPV 的型别存在一定差异,因此,临床使用 HPV 预防疫苗应考虑这些差异^[7]。宫颈癌发生相关的 HR-HPV 基因型有 15 种,疑似高危基因型 3 种^[8]。因此,本研究基于 15 种 HR-HPV 感染的现状以及不同年龄段进行分析,采用多通道实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测 HR-HPV 基因型。旨在为四川省自贡地区人群中 HPV 疫苗的临床应用提供流行病学研究依据,对宫颈癌的早期筛查、早期预防和早期干预提供依据。

tion of the Procleix Ultrip Plus Assay, a second generation multiplexed NAT assay for HIV-1, HCV, HBV[J]. Vox Sanguinis, 2008, 95(1):324-326.

- [5] 王长青,李浩泷,林授,等.基于转录介导扩增技术的新一代核酸检测试剂的多中心评估[J].临床输血与检验,2016,18(2):175-179.
- [6] Sramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, et al. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing[J]. N Engl J Med, 2004, 351(2):760-768.
- [7] 邓雪莲,张丽.输血相关 HBV 风险评估的研究进展[J].中国输血杂志,2012,25(6):601-605.
- [8] 汪德海,王瑞,等.血站核酸检测实验室质量监控指标应用[J].中国输血杂志,2012,25(6):524-527.
- [9] 姚凤兰,任芙蓉.超速离心浓缩对提高血液 NAT 筛查不确定标本鉴别率的临床研究[J].北京医学,2009,31(11):687-690.
- [10] 任芙蓉.实施血液病毒核酸检测策略的相关问题探讨[J].中国输血杂志,2010,23(1):1-3.

(收稿日期:2016-09-28 修回日期:2016-12-01)

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 8 月至 2016 年 9 月四川省自贡市第三人民医院门诊及住院患者 371 例,年龄 18~75 岁,平均(37.72±9.93)岁,其中 18~<30 岁 114 例,30~<40 岁 83 例,40~<50 岁 132 例,50~≤75 岁 42 例。

1.2 仪器与试剂 荧光 PCR 分析仪(上海宏石 SLAN-96P),高危型人乳头瘤病毒(HPV)分型核酸检测试剂盒(上海之江生物科技股份有限公司)。

1.3 标本采集 使用一次性宫颈取样器刷取宫颈病灶处脱落细胞,用宫颈刷子深入受检者宫颈口内 2~3 cm,顺时针转动 3~5 圈,取出宫颈刷片放入装有专用细胞保存液的样本管中,应将样本置于 2~8 °C 条件下可存放 7 d,≤-20 °C 条件下可以长期保存,避免反复冻融。

1.4 方法

1.4.1 HPV-DNA 提取 使用上海之江的 HPV 分型核酸检测试剂盒提取 HPV-DNA,严格按照试剂说明书操作,充分震

荡样本管,然后吸取液体至1.5 mL离心管中,13 000 r/min冷冻离心5 min,小心吸弃上清;沉淀加无菌生理盐水1 mL混匀,13 000 r/min冷冻离心5 min,弃上清。然后向沉淀中直接加入100 μL核酸提取液充分混匀,100 °C下恒温加热10 min,然后13 000 r/min冷冻离心5 min,保存上清液,作为PCR反应模板。

1.4.2 HPV-DNA扩增及15种高危基因分型 采用多通道实时荧光定量PCR方法对HPV的基因型进行分型^[9]。反应管置于荧光PCR分析仪上,设置扩增参数:94 °C×2 min;再按94 °C×10 s→62 °C×31 s,循环40次,荧光检测在62 °C,荧光通道同时选择SLAN-96P的通道1~4。

1.5 统计学处理 实验采集的相关数据采用SPSS17.0软件进行统计学分析。不同年龄段15种HR-HPV检出率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 15种HR-HPV基因型检出率及分布 371例中56例高危型HPV阳性,检出率15.09%。15种高危型HPV中共检测出11种类型,各高危基因型分布及检出率见表1,其中检出例数包括单种基因型感染、复合感染(两种及两种以上基因型感染)。HPV16型的检出率最高为5.93%,其次为HPV52(3.23%)、HPV58(2.96%)、HPV18(2.43%)。15种HPV高危基因分型的结果中,存在单种基因型HPV感染41例(11.05%)及复合感染15例(4.04%)。

表1 HPV的15种高危基因型检出情况

HPV型别	检出例数(n)	检出率(%)	HPV型别	检出例数(n)	检出率(%)
HPV16	22	5.93	HPV68	4	1.08
HPV52	12	3.23	HPV33	4	1.08
HPV18	9	2.43	HPV56	2	0.54
HPV58	11	2.96	HPV59	1	0.27
HPV31	5	1.35	HPV39	1	0.27
HPV51	5	1.35			

2.2 HR-HPV感染的年龄分布 高危型HPV感染的平均年龄(36.97 ± 12.99)岁,以18~<50岁为主,18~<30岁年龄段检出率最高(19.30%),高于其余年龄段,差异无统计学意义($\chi^2=3.703, P=0.295>0.05$)。随着年龄的增长,高危型HPV检出率呈下降趋势。见表2。

表2 高危型HPV感染的年龄分布情况

年龄	筛查例数(n)	检出率[n(%)]
18~<30岁	114	22(19.30)
30~<40岁	83	14(16.87)
40~<50岁	132	16(12.12)
50~≤75岁	42	4(9.52)

3 讨 论

宫颈癌是一种具有明确病因的恶性肿瘤,与HPV的感染密切相关^[10]。根据HPV基因亚型致癌危险大小将HPV基因型分为高危基因型和低危基因型两组,其中HR-HPV的持续感染是导致宫颈癌发生的最主要原因。因此,清除HR-HPV感染,可以对宫颈癌发生的病因进行监测和干预来降低女性宫颈癌发生的风险;而HR-HPV基因型检测可以有效预

防宫颈癌的发生^[11]。全球范围内大量研究显示HPV亚型分布有明显的地域性^[12]。在中国北京、南京、重庆等地区,HPV检出率为10%~40%^[7,13~14]。HPV16、52、18、58和33型是中国女性宫颈癌患者中最常见的5种HR-HPV基因型^[15]。

HPV分型的检测方法发展迅速,最常用的是荧光PCR和HC II杂交捕获两种方法^[16~17]。多通道实时荧光定量PCR技术是一种灵敏度高、特异度高、可以定量、分型准确、快速的方法。本研究采用多通道实时荧光定量PCR技术对自贡地区371例患者15种HR-HPV基因分型检测,结果显示自贡地区HR-HPV检出率为15.09%,低于中国妇女HPV检出率16.8%^[15],可能与本研究范围为常见15种高危型HPV,未检测低危型HPV;也可能与地域、工作环境和经济生活等多方面因素有关。

HPV基因分型检测已成为筛查和预防宫颈癌的关键技术之一。本研究HR-HPV基因分型检测结果显示自贡地区HPV16、52、58、18为易感基因型,其中HPV16型是检出率最高(5.93%)的基因型别,这与国内一些报告是一致的。本研究显示检出率第2、3的基因型分别是HPV52、58,与杨贊平等^[7]报道重庆地区妇女中最常见的第2、3位HPV型别是一致的,这可能是由于自贡与重庆在地理位置上相近的原因。但与陈娟等^[14]报道的南京地区和陈秀杰等^[18]报道的天津地区是不一致的,这就提示HPV基因亚型的分布存在的地区差异性。有研究表明HR-HPV多重感染可能对宫颈病变及宫颈癌的发生发展起到了促进作用,更容易造成宫颈癌变。本研究显示,自贡地区主要以单一基因型感染为主,检出率11.05%,而两种及两种以上基因型HPV检出率为4.04%。

本研究还分析了不同年龄段女性HR-HPV感染的分布情况,为自贡地区HR-HPV流行现状的分析研究、相关疫苗的研制开发及病毒感染的预防治疗提供科学依据。美国研究发现20~24岁女性发病率最高^[19];意大利对无症状性女性进行HPV基因型检测显示20~30岁发病率最高^[20]。本研究结果显示,自贡地区18~<30岁人群检出率最高,HR-HPV感染趋向年轻化,造成这种现象的可能原因:(1)可能与自贡地区年轻女性的夜生活丰富有关;(2)女性早期性生活、性生活频繁以及性开放和等社会风气有关;(3)一些女性宫颈上皮修复的功能尚未成熟,可能增加HR-HPV感染的概率^[21]。Tricco等^[22]研究指出,注射HPV疫苗,对于<30岁的年轻女性预防感染HPV具有很好地临床应用价值,能够降低女性宫颈癌及癌前病变的发病率。针对四川省自贡地区18~<30岁的年轻女性人群HR-HPV检出率最高的现状,自贡地区女性在30岁之前注射HPV疫苗也有重要的应用价值。从15种HR-HPV基因型检出率可以看出,自贡地区女性HR-HPV感染的主要高危基因型为HPV16、52、58、18,提示需要研制本地区的多价HPV疫苗,需要考虑以上4种主要基因型来预防宫颈癌的发生。

综上所述,本研究采用多通道实时荧光定量PCR技术可检测HR-HPV多种基因型,对HR-HPV感染基因亚型的感染鉴别及宫颈癌的早期预防与治疗具有较好的临床价值。自贡地区15种HR-HPV基因型的检测分析表明,HPV16、52、58、18型在自贡地区检出率较高,且HR-HPV感染趋向年轻化,这研究结果对进一步了解HR-HPV的传播、HR-HPV疫苗的研制及宫颈癌预防策略的制订具有重要意义,同时为自贡地区HR-HPV分子流行病学研究提供科学依据。

参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2):69-90.
- [2] Arbyn M, Walker A, Meijer CJ. HPV-based cervical-cancer screening in China[J]. Lancet Oncology, 2010, 11(12): 1112-1113.
- [3] 李瑞珍,石菊芳,周庆芝.应用基因芯片技术检测高危型人乳头瘤病毒在宫颈癌筛查中的评价[J].中华医学杂志,2006,86(5):307-311.
- [4] Donders GG, Bellen G, Declercq A, et al. Change in knowledge of women about cervix cancer, human papilloma virus (HPV) and HPV vaccination due to introduction of HPV vaccines[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2009, 145(1):93-95.
- [5] Francesco B, Stefania C, Andrea P, et al. Prevalence and viral load of oncogenic human papillomavirus types associated with carcinoma in a population of North Italy [J]. Med Virol, 2009, 81(3):278-287.
- [6] Clifford GM, Smith JS, Plummer M, et al. Human papillomavirus types in invasive cancer worldwide: a meta-analysis [J]. Br J Cancer, 2003, 88(3):63-73.
- [7] 杨贊平,杨双双.重庆地区妇女高危型 HPV 感染现状及年龄的分层分布[J].重庆医学,2013,42(3):249-250.
- [8] Munoz N, Bosch FX, De Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6):518-527.
- [9] 王巧燕,陈伟华.国内 HPV DNA 检测的常见方法比较[J].检验医学,2012,27(1):71-74.
- [10] Powell NG, Hibbitts SJ, Boyde AM, et al. The risk of cervical cancer associated with specific types of human papillomavirus: a case-control study in a UK population[J]. Int J Cancer, 2011, 128(7):1676-1682.
- [11] 李世霞.515 例妇女高危型 HPV 感染检测结果分析[J].中国肿瘤临床,2011,38(16):954-956.
- [12] Li N, Franceschi S, Jones RH, et al. Human papillomavirus infection in pregnant women: a systematic review and meta-analysis[J]. J Clin Virology, 2014, 61(3):135-137.
- [13] 李晓阳,郭学青.北京石景山地区人乳头瘤病毒(HPV)感染的分子流行病学研究[J].国际检验医学杂志,2011,32(8):866-868.
- [14] 陈娟,麻全慧,施建丰,等.南京地区 2387 例有性生活女性的宫颈脱落细胞高危 HPV 检测分析[J].山东医药,2014,54(23):70-72.
- [15] 赵方辉,乔友林.人乳头瘤病毒感染分子流行病学研究[J].中国实用妇科与产科杂志,2010,22(5):327-331.
- [16] Salimovic-Basic I. Evaluation of hybrid capture 2 HPV DNA test and two variants of polymerase chain reaction (PCR-PGMY11/PGMY09 and PCR-CPI/CPIIG) according to HPV types[J]. Med Arh, 2007, 61(3):135-137.
- [17] 李萌辉,李世霞,刘俊田.两种高危型 HPV 检测方法在宫颈癌早期筛查中的应用[J].中国肿瘤临床,2013,40(21):1300-1303.
- [18] 陈秀杰,李艳玲,曲芫芫,等.2459 例女性健康体检者 HPV 基因型及高危因素分析[J].天津医药,2014,42(2):123-126.
- [19] Dunne EF, Unger ER, Sternberg M, et al. Prevalence of HPV infection among females in the United States[J]. JAMA, 2007, 297(8):813-819.
- [20] Del Prete R, Di Taranto AM, Lipsi MR, et al. Prevalence and genotypes identification of human papillomavirus infection in a population of South Italy[J]. J Clin Virology, 2008, 42(2):211-214.
- [21] 尹荣凤,赵旭鸿,李智,等.不同年龄段女性人乳头瘤病毒感染状况分析[J].检验医学,2014,29(7):708-711.
- [22] Tricco AC, Ng CH, Gilca V, et al. Canadian oncogenic human papillomavirus cervical infection prevalence: Systematic review and meta-analysis[J]. BMC Infect Dis, 2011, 11(1):235-244.

(收稿日期:2016-09-30 修回日期:2016-12-03)

• 临床研究 •

简阳地区孕产妇乙型肝炎病毒感染情况研究

李阳超,毛 炜

(四川省简阳市人民医院检验科 641400)

摘要:目的 了解孕产妇乙型肝炎(简称乙肝)的感染率,为预防控制乙肝母婴传播提供参考依据。方法 选取该地区 2011 年 1 月至 2015 年 12 月医疗机构门诊、住院孕产妇作为研究对象,采用时间分辨免疫荧光分析法检测其血清乙肝病毒标志物,然后进行结果分析。结果 简阳地区 2011 年 1 月至 2015 年 12 月孕产妇乙肝感染率为 9.09%。18~<20 年龄段孕产妇乙肝病毒阳性率最低为 6.23%,40~≤45 岁年龄段孕产妇乙肝病毒阳性率最高(10.17%)。结论 简阳地区孕产妇乙肝感染率较高,表明该地区仍为乙肝高流行地区,母婴阻断是预防控制乙肝的关键。

关键词:孕妇; 产妇; 乙型肝炎病毒; 感染**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2017.03.058**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2017)03-0423-02

中国是乙型肝炎(简称乙肝)的高发区,乙肝是危害公众健

康的主要传染病之一。母婴传播是乙肝主要传播途径,为预防